

19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift  
10 DE 42 38 779 A 1

21 Aktenzeichen: P 42 38 779.5  
22 Anmeldetag: 12. 11. 92  
43 Offenlegungstag: 19. 5. 94

51 Int. Cl.<sup>8</sup>:  
A 61 K 37/02  
A 61 K 31/575  
A 61 K 31/685  
A 61 K 7/48  
A 61 K 7/50  
A 61 K 7/42

DE 42 38 779 A 1

11 Anmelder:  
Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin  
Berlin-Buch, O-1115 Berlin, DE

12 Erfinder:  
Reazka, Regina, Dr., 18341 Schwanebeck, DE; Golz,  
Karin, 13187 Berlin, DE; Richter, Jana, 10315 Berlin,  
DE; Pose, Sabine, 15537 Grünheide, DE; Bertag,  
Christa, 10243 Berlin, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Lyotrophe Mesophasen und ihre Anwendung in der Pharmazie, der Kosmetik und der Dermatologie

57 Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zubereitung für die Dermatologie und/oder kosmetische Anwendung in vesikulärer Form. Sie ist gekennzeichnet durch wasser- oder lipidlösliche Pflanzeninhaltsstoffe und/oder wirksame Proteine. Von besonderer Bedeutung für die Wirksamkeit dieser Zubereitung ist das Protein Superoxiddismutase (SOD), das bevorzugt aus Hefe (= Hefip) gewonnen wird.

DE 42 38 779 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen  
BUNDESDRUCKEREI 03. 94 408 020/440

4/57

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft lyotrophe Mesophasen und ihre Anwendung in der Pharmazie, der Kosmetik und der Dermatologie.

5 Liposomen lassen sich als geschlossene, mikroskopische Strukturen charakterisieren, die aus konzentrisch geordneten Amphiphildoppelschichten bestehen, die ihrerseits wäßrige Kompartimente voneinander abtrennen.

Wegen ihrer Ähnlichkeit zu Zellmembranen werden Liposomen seit etwa 22 Jahren als multifunktionelles Träger- und Transportsystem für biologisch aktive Substanzen einschließlich pro- und eukarionischer Gene untersucht (Arndt, D., Fichtner, I. (ed.): Liposomen Darstellung – Eigenschaften – Anwendung, Akademie-Verlag, Berlin [1986], Gregoriadis, G. (ed.): Liposomes as drug carriers: Recent trends and progress. John Wiley and Sons, Chichester [1988], Lopez-Berestein, G., Fidler, I. J. (ed.): Liposomes in the therapy of infectious diseases and cancer, Alan R. Liss, New York, [1989], Nicolau, C., Cudd, A.: Liposomes as carrier of DNA. Critical Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems 6, 239–271 [1989], Fichtner, I., Arndt, D.: Stand und Perspektiven der Liposomenforschung, Pharmazie 44, 752–757 [1989]).

15 Seit 1985 erlangen kosmetisch, dermatologisch und pharmazeutisch wirksame Zubereitungen auf Liposomenbasis besondere Bedeutung (Braun-Falco, O., Korting, H.C., Maibach, H.J. (ed.): Liposome Dermatics, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg [1992]). Solche Firmen wie L'Oreal und Parfums Christian Dior (Schenk, P., Bendas, F., Nuhn, P.: Internationale Trends in der Entwicklung von Liposomen unter besonderer Berücksichtigung der Patentsituation, Pharmazie 43, 457–463 [1988]) haben Kosmetika auf Liposomenbasis entwickelt und eingeführt (z. B. Capture<sup>®</sup>, Christian Dior). 1989 waren im europäischen Raum ca. 60 verschiedene kosmetische Liposomenpräparate erhältlich.

20 Liposomen bieten im Vergleich zu anderen Trägersystemen (Nanopartikel, künstliche Zellen, Nisosomen usw.) verschiedene Vorteile, die sich auch für die kosmetisch-pharmazeutische Anwendung ausnutzen lassen, wie:

- die Wählbarkeit der Zusammensetzung, Ladung, Größe und Stabilität je nach Fragestellung,
- die Möglichkeit des vollständigen biologischen Abbaus,
- die kaum vorhandenen immunologischen bzw. toxischen Reaktionen,
- die häufig veränderte Verteilung bzw. Pharmakokinetik der liposomal verkapselten Substanzen.

30 Aufgrund der Möglichkeit in Liposomen sowohl wasserlösliche als auch lipidlösliche Substanzen einschließen zu können (amphiphile Charakter der eingesetzten Lipide), ergeben sich für liposomale Kosmetika eine Reihe von Kombinationsmöglichkeiten.

In der Dermatologie kommt es darauf an, den erforderlichen Wirkstoff möglichst in hoher Konzentration am Wirkort anzureichern, ohne dabei den Gesamtorganismus zu belasten (Martin, G.P.: Phospholipids as skin penetration enhancer. In: Walters, K., Hadgraft, J. (eds.): Skin penetration enhancement. Verlag Marcel Dekker, New York [1992]). Eine Resorption ist in den meisten Fällen unerwünscht. Gleichzeitig ist man bemüht, eine besonders verträgliche Grundlage einzusetzen, um die meist beeinträchtigte Hautbarriere der Patienten nicht weiter zu schwächen. Liposomenpräparate eignen sich zum einen als Träger von Wirkstoffen und zum anderen als optimale reizlose Grundlage. Die Erwartung Dermatika auf Liposomenbasis lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- geringe systemische Belastung
- ausgezeichnete Verträglichkeit
- 45 – geringer Wirkstoffeinsatz bei gleicher Wirksamkeit
- Depotwirkung und Wirkstofffreisetzung über längere Zeiträume
- Bildung einer natürlichen Barriere bei krankhaft gesteigerter Permeabilität
- gleichzeitige Schutz- und Pflegewirkung
- bessere therapeutische Breite
- 50 – vollständiger biologischer Abbau.

Bisher wird weltweit nur ein Dermatikum auf Liposomenbasis, ein Antimykotikum mit dem Wirkstoff Econazol (Pevary-Lipogel), Fa. Cilag, Schweiz, angeboten.

Die Erfindung wird gemäß der Ansprüche 1–9 realisiert. Es kommen erfindungsgemäß wasser- und lipidlösliche Pflanzeninhaltsstoffe wie z. B. Vitamin B12, Vitamin C, Karotin, Alpha-Tocopherol für eine vesikuläre Umhüllung in Frage. Von besonderer Bedeutung für die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Zubereitung ist das Protein Superoxiddismutase (SOD). Superoxiddismutase ist ein Radikalfängerenzym mit Antioxidanz-Wirkung und wird bevorzugt aus Hefe (= Heliip) gewonnen.

Die Verkapselung von SOD in Liposomen unterschiedlicher Zusammensetzung, Größe, Stabilität und Ladung sowie Einarbeitung dieser Suspension in verschiedene kosmetisch oder dermatologisch getestete Substanzgrundlagen führte überraschenderweise zu einer deutlichen Verbesserung der Gebrauchseigenschaften im Vergleich zu den bisher bekannten Mitteln.

An Testgruppen, zusammengesetzt aus Hautkranken mit Ekzemen aller Art, Erythemasquamosen oder toxisch-allergischen Dermatosen, Mykosen, Virosen, bullösen Dermatosen, Pyodermien, Epizoonosen wurden 65 folgende Eigenschaften der erfindungsgemäßen Zubereitung gezeigt:

- signifikante Entzündungshemmung,
- verlängerte Schutz- und Pflegewirkung durch tieferes Eindringen in die Hornschicht,

- Glättung der Hautoberfläche durch Okklusionsbildung (Verhinderung des transepidermalen Wasserverlustes, erhöhte Wasserbindung im interzellulären Bereich)
- gesteigerte Elastizität und Plastizität der Hornschicht
- ausgezeichnete Verträglichkeit (aufgrund der Ähnlichkeit mit körpereigenen Strukturen).

Die Zusammensetzung der erfindungsgemäßen Zubereitung kann in weiten Bereichen der durch die Ansprüche gegebenen Grenzen variieren. Je nach Anwendungszweck ist der He-Lip-Anteil bis zu einer maximalen Menge von 8% variierbar. Für Haarkuren wird z. B. bevorzugt eine Menge von 1,0–1,5% Helip eingesetzt, wohingegen es vorteilhaft ist, diesen Anteil in Shampoos auf etwa das Doppelte zu erhöhen.

Die Erfindung soll nachfolgend durch Ausführungsbeispiele näher erläutert werden.

#### Ausführungsbeispiele

##### I. Herstellung von HeLip

###### Beispiel 1

Ein Lipidfilm, bestehend aus einer Mischung von 2328 mg Eiphsphatidylcholin (Herstellung entsprechend Singleton et al., J. Am. Oil Chemist's Soc. 42, 53–56 [1965]) und 1132 mg Cholesterol (entspr. USP XVIII), wird hergestellt, den man mit einem Gemisch, bestehend aus 450 ml Tetrahydrofuran und 60 ml sterilem, Calcium-freiem Wasser, die 500 internationale Einheiten (U) Superoxiddismutase (SOD) enthält, dispergiert. Anschließend wird das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, bei unterschiedlichen Vakuumstufen abdestilliert und die sich über eine Gelzwischenphase bildende Liposomendispersion zur Abtrennung des nicht verkapselten Wirkstoffs bei 40 000 U/min, 1 h, zentrifugiert (3 mal mit je der 10-fachen Wassermenge im Überschuß, bei 4 Grad Celcius). Nachdem das Pellet (im Anschluß an die letzte Zentrifugation) in der gewünschten Menge Wasser resuspendiert ist, extrudiert man die Liposomenlösung über Filtermembranen (2,0; 1,0; 0,8; 0,4 und 0,2 µm).

Die erhaltene Vesikelsuspension ist bei 4 Grad Celcius lagerfähig.

###### Beispiel 2

Aus einer Mischung von 2328 mg hydriertem Eiphsphatidylcholin (Herstellung entsprechend Reszka et al., Pharmazie 44, 503 [1989]) und 1132 mg Cholesterol (entspr. USP XVIII) werden mit denen in Beispiel 1 beschriebenen Zusätzen in gleicher Weise Liposomen hergestellt und ebenso wie dort weiterbehandelt. Die erhaltene Liposomendispersion ist bei 4 Grad Celcius lagerfähig.

###### Beispiel 3

Einen Lipidfilm, bestehend aus 1164 mg hydriertem Eiphsphatidylcholin (Herstellung Reszka et al., Pharmazie 44, 503 [1989]) dispergiert man in 225 ml Tetrahydrofuran und 30 ml, sterilem, Calcium-freiem Wasser, indem sich 250 U SOD befinden, und behandelt diese Suspension in gleicher Weise weiter, wie in Beispiel 1 beschrieben. Die erhaltene Liposomendispersion ist bei 4 Grad Celcius lagerfähig.

###### Beispiel 4

Ein Lipidfilm, bestehend aus 150 mg Eiphsphatidylcholin (Herstellung entsprechend Singleton et al., J. Am. Oil Chemist's Soc. 42, 53–56 [1965]), wird in 3,86 ml sterilem, Calcium-freiem Wasser, das 33 U SOD enthält, dispergiert. Die entstandene Dispersion multischichtiger Liposomen kann nun in schon beschriebener Weise durch Filtermembranen extrudiert werden. Die erhaltene Liposomendispersion ist bei 4 Grad Celcius lagerfähig.

###### Beispiel 5

Ein Lipidfilm, bestehend aus 150 mg hydriertem Eiphsphatidylcholin (Herstellung entsprechend Reszka et al., Pharmazie 44, 503 [1989]), wird in 3,86 ml sterilem, Calcium-freiem Wasser, die 33 U SOD enthält, dispergiert. Die entstandene multischichtige Vesikeldispersion wird nun, wie in Beispiel 4 beschrieben, weiterbehandelt.

###### Beispiel 6

Aus einer Mischung von 129,2 mg hydriertem Eiphsphatidylcholin (Herstellung entsprechend Reszka et al., Pharmazie 44, 503 [1989]), 31,13 mg Cholesterol (entspr. USP XVIII) und 9,04 mg Dicethylphosphat (Dihexadecylhydrogenphosphat, reinst, (Serva) wird ein Lipidfilm hergestellt, der in einem Gemisch, bestehend aus 25 ml Tetrahydrofuran und 2,33 ml sterilem, Calcium-freiem Wasser, in dem 21 U SOD gelöst wurden, dispergiert. Anschließend wird die Suspension, wie im Beispiel 1 beschrieben, weiterbehandelt. Es entsteht eine Liposomen-dispersion, die bei 4 Grad Celcius lagerfähig.

## II. Pharmazeutische Formulierung

5	Emulgatorsystem	8,5%
	bestehend aus:	
	Phosphorsäureester, Isopropylpalmitat,	12,2%
	Paraffinum	
	Glycerin	5,3%
	Talkum	10,0%
10	Ton	5,0%
	Konservierungsmittel	0,5%
	HeLip	10,0%
	Demineralisiertes H <sub>2</sub> O	48,5%

## Arbeitsvorschriften Pharmazeutische Formulierung

## Kaltherstellung

Die Rohstoffe der Reihe nach zugeben und bei Zimmertemperatur gut homogenisieren. Der Zusatz von HeLip erfolgt unter langsamem Rühren.

## UV-Blocker

25	Emulgatorsystem	8,5%
	bestehend aus:	
	Polyglycerinester, Stabilisatoren, Wasser,	1,5%
	Palmitinsäureisopropylester, Vaseline	
	Paraffinum	9,5%
	MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,5%
30	Glycerin	3,0%
	Parfümöl	0,5%
	Konservierungsmittel	0,5%
	UVA-Filter	4,0%
	UVB-Filter	4,0%
35	TiO <sub>2</sub>	8,5%
	Ton	2,5%
	HeLip	5,0%
	Demineralisiertes H <sub>2</sub> O	52,0%

## III. Kosmetische Formulierung

## Arbeitsvorschriften UV-Blocker

Fettphase auf 80°C erwärmen. Zugabe der auf 80°C erhitzten Wasserphase unter Rühren. Ca. 20 Minuten homogenisieren und abkühlen. Bei einer Temperatur von ca. 30°C werden die HeLip der Emulsion zugegeben und langsam untergerührt.

## Emulsion mit HeLip

50	Gelbilder	0,8%
	Emulgator	1,0%
	Konservierungsmittelsystem	0,6%
	Naturöl 1	8,0%
55	Naturöl 2	4,0%
	Glycerin	3,0%
	Parfümöl	0,5%
	TEA	0,6%
60	HeLip	10,0%

## Phase A

Wasser, Gelbilder und Konservierungsmittel bei 60°C homogenisieren.

## Phase B

Emulgator, Glycerin, Naturöl 1 und 2 und Konservierungsmittel auf 60°C erwärmen und Phase A unter Rühren zugeben — homogenisieren — abkühlen.

# DE 42 38 779 A1

## Phase C

TEA bei ca. 40° C unter Rühren zugeben.

## Phase D

Parfümöl und HeLip bei ca. 35° C der Emulsion langsam unterrühren.

## Gesichtsmaske

Gelbilder 1	1,0%	10
Gelbilder 2	0,1%	
Naturöl	3,0%	
Propylenglykol	5,0%	
Glycerin	4,0%	15
HeLip	5,0%	
Konservierungsmittelsystem	0,5%	
TEA	0,06%	
Parfümöl	0,2%	20
destilliertes H <sub>2</sub> O	Rest	

Wie Emulsion

## Fluid mit "HeLip"

Gelbilder	0,6%	25
Natronlauge	0,6%	
Konservierungsmittelsystem	0,5%	30
Propylenglykol	3,5%	
Glycerin	4,0%	
Naturöl	2,0%	
HeLip	5,0%	35
Parfümöl	0,5%	
entionisiertes H <sub>2</sub> O	Rest	

## Phase A

Wasser und Gelbilder bei Zimmertemperatur homogenisieren.

## Phase B

Konservierungsmittel Propylenglykol, Glycerin, Naturöl werden der Phase A unter Rühren zugegeben.

## Phase C

Zugabe von Natronlauge und Parfümöl kurz und intensiv verrühren.

## Phase D

Unter sehr langsamen Rühren "HeLip" zugeben und gut in das gelige Fluid verteilen.

## Haarkur

Gelbilder	0,6%	55
Propylenglykol	4,0%	
Konservierungsmittelsystem	0,5%	
TEA	0,35%	
Parfümöl	0,2%	60
HeLip	1,0%	
destilliertes H <sub>2</sub> O	Rest	

Wasser, Gelbilder, Konservierungsmittel, Propylenglykol und Parfümöl einrühren und homogenisieren.  
Zugabe von HeLip unter langsamem Rühren bis zur Homogenität mischen.

# DE 42 38 779 A1

## Shampoo mit "HeLip"

	Tensidrohstoff A	18%
	Tensidrohstoff B	5%
5	Salz	1,5%
	Zitronensäure	0,01%
	Konservierungsmittel	0,5%
	HeLip	2,0%
10	Parfümöl	0,2%
	destilliertes H <sub>2</sub> O	Rest

Wasser wird bei Zimmertemperatur vorgelegt. Unter Rühren Zugabe von Tensidrohstoff A und B, Salz, Zitronensäure, Konservierungsmittel und Parfümöl. Gut durchmischen. Zum Schluß unter langsamem Rühren Zugabe von HeLip.

## SUN-Lotion

	Gelbilder	0,2%
20	Emulgator	1,0%
	Glycerin	4,0%
	Naturöl 1	8,0%
	Naturöl 2	4,0%
25	Konservierungsmittelsystem	0,5%
	Lichtschutzfilter A	1,0%
	Lichtschutzfilter B	1,0%
	Lichtschutzfilter A/B	3,5%
	Parfümöl	0,5%
30	HeLip	3,0%
	TEA	0,2%
	destilliertes H <sub>2</sub> O	Rest

### Phase A

35 Wasser und Gelbilder bei 60°C homogenisieren.

### Phase B

40 Emulgator, Glycerin, Naturöl 1 und 2, Konservierungsmittel bei 60°C gut vermischen. Phase A und Phase B bei 60°C homogenisieren und danach abkühlen auf 40°C.

### Phase C

45 Lichtschutzfaktoren zugeben und vermischen.

### Phase D

50 Zugabe von TEA und Parfümöl unter Rühren.

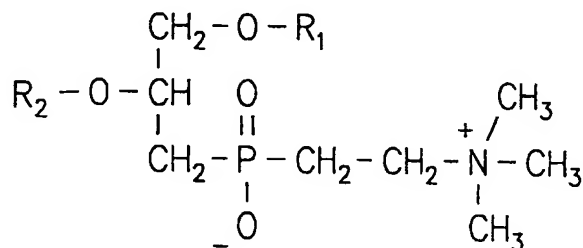
### Phase E

HeLip wird bis 30°C langsam unter Rühren der Emulsion zugegeben.

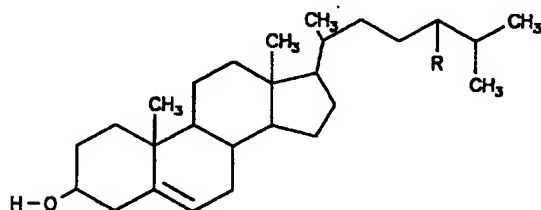
## Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zubereitung für die Dermatologie und/oder kosmetische Anwendung in vesikulärer Form, vorzugsweise in liposomaler Form, gekennzeichnet durch wasser- oder lipidlösliche Pflanzeninhaltsstoffe und/oder wirksame Proteine, ggf. mit anderen Zusätzen in lyotropen Mesophasen, wie
  - mikellulären Systemen
  - Mikroemulsionen
  - lamellaren Phasen
  - hexagonalen Phasen.
2. Pharmazeutische Zubereitung mit ausgeprägt kosmetischer Wirkung gemäß Anspruch 1 zur Verwendung als
  - a) Hauptpflegemittel
  - b) Sonnenschutzformulierungen mit UV-Absorbern
  - c) Bräunungsmittel

- d) nachfettendes After-shaves  
 e) Reinigungslotionen und -öle  
 f) verkapselte Radikalfänger  
 g) Formulierung gegen Schwangerschaftsreifen  
 h) Haar- und Haarbodenpflegemittel  
 i) Ölbäder  
 j) Fitness-Fraktionen.
3. Pharmazeutische Zubereitung gemäß Anspruch 1 zur Verwendung als Antimykotikum oder als Mittel mit Antimelanomwirkung.
4. Pharmazeutische Zubereitung gemäß Anspruch 1, gekennzeichnet durch  
 a) ein natürliches, halbsynthetisches oder vollsynthetisches Amphiphil, wie Lipid, Tensid, Emulgator  
 b) ein Steroid  
 c) eine geladene Lipidkomponente  
 d) eine oder mehrere wasser- oder lipidlösliche Pflanzeninhaltsstoffe und/oder wirksame Proteine.
5. Pharmazeutische und kosmetische Zubereitung nach Anspruch 4, gekennzeichnet durch  
 a) ein natürliches, halbsynthetisches oder vollsynthetisches Amphiphil der allgemeinen Formel I



worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> = C<sub>10</sub>–C<sub>20</sub>-Alkanoyl-, Alkenoyl-, Alkyl-, Alkenyl bedeuten,  
 b) ein Steroid der allgemeinen Formel II



- in der R = H - Cholesterol  
 oder CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–O–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–OH = Diethoxycholesterol bedeutet,  
 c) das Anion des Dicethylphosphats, der Palmitinsäure, der Stearinsäure, das Anion eines Phospholipids, wie Phosphatidylserin, Phosphatidsäure oder das Anion eines Sphinglipids, wie Sulfatid, ein Kation, wie Stearylamin  
 d) ein oder mehrere Pflanzeninhaltsstoffe und/oder wirksame Proteine.
6. Pharmazeutische und kosmetische Zubereitung nach den Ansprüchen 4 und 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie als Pflanzeninhaltsstoffe Vitamine, wie Vitamin B12, Vitamin C, Karotin oder Alpha-Tocopherol und als wirksame Proteine Superoxiddismutase enthalten.
7. Pharmazeutische und kosmetische Zubereitung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie als wirksames Protein Superoxiddismutase aus Hefe (HeLip) enthält.
8. Pharmazeutische und kosmetische Zubereitung nach den Ansprüchen 4 und 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Komponenten a : b : c im Molverhältnis 1 : 0,1 : 0,01 bis 1 : 1 : 0,1 bis 0,5 enthält.
9. Pharmazeutische und kosmetische Zubereitung nach den Ansprüchen 4, 5 und 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Komponenten cd im Verhältnis 2 : 1 bis 10 : 1 enthält.

- Leerseite -